

CITRUSVIS - UM SISTEMA DE VISÃO COMPUTACIONAL NO COMBATE À MANCHA PRETA EM CITROS

MÁRIO AUGUSTO PAZOTI¹,
JOSÉ DALTON CRUZ PESSOA² e ODEMIR MARTINEZ BRUNO¹

RESUMO

Dentre as principais doenças que afetam a citricultura, pode-se destacar a mancha preta, causada pelo fungo *Guignardia citricarpa*, identificada por lesões nas folhas e nos frutos. A doença acentua a queda prematura do fruto. Além disso, deprecia o para o comércio *in natura* e aumenta os custos de produção com seu controle. Uma das alternativas no combate à doença é identificar a presença dos esporos do fungo antes mesmo de os sintomas começarem a aparecer. Neste artigo é apresentado um sistema de visão artificial que analisa imagens do material coletado nos pomares e identifica a presença dos esporos aplicando técnicas baseadas na curvatura da forma e descritores de Fourier. Obtiveram-se resultados bastante satisfatórios com essa aplicação na identificação do fungo, com, aproximadamente, 97% de acerto durante os experimentos.

Termos de indexação: pinta preta, fitossanidade, análise de imagens, *Guignardia citricarpa*.

¹ Departamento de Ciências de Computação ICMC/USP – Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação, Caixa Postal 668, 13560-970 São Carlos (SP). E-mail: pazoti,bruno@icmc.usp.br

² Embrapa Instrumentação Agropecuária Rua XV de Novembro, 1452 13560-970 São Carlos (SP). E-mail: dalton@cnpdia.embrapa.br

SUMMARY

CITRUSVIS – A COMPUTER VISION SYSTEM FOR THE MANAGEMENT OF CITRUS BLACK SPOT

Among the diseases affecting the commercial citrus production, the citrus black spot (CBS) is considered to cause substantial losses. It is a fungal disease caused by *Guignardia citricarpa*, responsible for necrotic spots and premature fruit drop. Its occurrence results in depreciation for fresh-fruit market and increase of the production costs due to disease control. The analyses of spores in suspension spread throughout the orchards have been applied as a preventive action to identify the presence of fungus before symptoms appearance. In this study, a computer vision system is presented to analyze images and identify the ascosporous based on shape curvature and the Fourier descriptors techniques. Satisfactory results were obtained with this strategy for the fungus identification (nearly 97% efficiency).

Index terms: phytosanitary measures, image analysis, *Guignardia citricarpa*.

1. INTRODUÇÃO

A citricultura brasileira destaca-se, mundialmente, por ser a maior em número de plantas e pela importância no mercado mundial (responsável por 80% do comércio de suco de laranja) (TOLEDO, 2005). Entretanto, a produção de citros é afetada por vários fatores, tais como doenças e pragas, falta de irrigação nos pomares, estreita base genética e falta de suporte tecnológico. O controle químico nem sempre é eficaz, em razão da característica sistêmica das diversas doenças, etiologia e facilidade de dispersão. Doenças como a clorose variegada (CVC), cancro cítrico, leprose, tristeza, mancha preta (MPC) e pestes como o ácaro da leprose, transmissor do vírus da leprose dos citros (CiLV) são fatores bióticos comuns que, atualmente, desafiam a citricultura.

Estudo desenvolvido pela Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, entre 1995 e 1997, sobre a incidência e distribuição da mancha preta, revelou que a área destinada à produção de citros era de

925.974,4 hectares (em torno de 247 milhões de plantas) e, aproximadamente, 331.651 hectares estavam infectados (em torno de 88,47 milhões de plantas) (PINO, 1997). É importante ressaltar que, além do Brasil, essa doença afeta outras regiões, tais como: Argentina, Austrália, África do Sul, China e Indonésia (BAAYEN et al., 2002).

A mancha preta dos citros é causada pelo fungo *Guignardia citricarpa* Kiely, que afeta folhas e frutos de várias espécies de citros, como tangerinas (*C. reticulata* Blanco), laranja [*C. sinensis* (L.) Osbeck], tangores (*C. reticulata* x *C. sinensis*), pomelo (*C. paradisi* Macfad.), limões verdadeiros (*C. limon* Burm. f.), limas [*C. aurantifolia* (Christm.) Swingle], entre outros (EPPO/CABI, 1997).

Nos frutos, os sintomas caracterizam-se por lesões que podem ser classificadas em seis tipos (Spósito, 2003): mancha-sardenta, mancha-marrom ou mancha-dura, mancha-virulenta, falsa-melanose, mancha-rendilhada e mancha-trincada. Além dessas lesões, há também variações e combinações de tais sintomas, cuja ocorrência está associada às condições climáticas e à suscetibilidade dos frutos.

A doença é disseminada por dois tipos de esporos do fungo: os assexuais (conídios), que se desenvolvem nos frutos, nos ramos e nas folhas fixadas à planta, e os sexuais (ascósporos), que se desenvolvem nas folhas em decomposição no solo. Eles infectam frutos da mesma planta ou plantas vizinhas, no entanto, os ascósporos também podem infectar plantas de outros pomares, porque podem ser disseminados a quilômetros de distância pelo vento (GOES, 2002).

Embora os conídios também possam infectar as plantas, os ascósporos são vistos como os responsáveis pela introdução do patógeno no pomar. Os ascósporos são unicelulares, hialinos, sem partições, com dilatação central, cilíndricos, com as extremidades arredondadas, medindo aproximadamente 8–17,5x3,3–8µm (BALDASSARI et al., 2001; EPPO/CABI, 1997).

A rápida detecção e identificação da doença são fatores de suma importância em vista do longo período de incubação que ela apresenta, desde o momento da infecção até a manifestação dos sintomas. Com base nisso, procurou-se identificar a presença de possíveis esporos, por meio da coleta de partículas suspensas em um pomar, as quais são aspiradas por um caçador-esporo e depois depositadas em um disco coletor. Após esse procedimento, os discos são analisados visualmente com auxílio de um microscópio. Ao

final da análise e depois de realizada a contagem dos esporos causadores da doença, verifica-se se há ou não alta probabilidade de infecção, com base na concentração encontrada no pomar, o que permite alertar o agricultor a tomar possíveis precauções.

Embora existam na literatura trabalhos científicos relacionados à identificação de formas por meio de análise de imagens (ARAYA-KROFF et al., 2004; TAKEMURA et al., 2004; WILKINSON et al., 2000; VANHOUTTE et al., 1995), este trabalho foi o primeiro a identificar os esporos do fungo *Guignardia citricarpa* por meio desse método, tendo gerado pedido de patente nacional e internacional.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Captura dos esporos

O caça-esporo, equipamento utilizado para coleta de partículas em suspensão no pomar, aspira o ar e deposita as partículas sólidas em um disco de acrílico, o qual gira em uma seqüência de passos predefinidos (Figura 1). A superfície do disco contém uma camada de material transparente e aderente que retém apenas as partículas microscópicas sólidas, entre elas os esporos. O aparelho é instalado em pontos estratégicos nas ruas do pomar, onde permanece por alguns dias efetuando a coleta. Periodicamente, os discos de coleta são recolhidos para serem analisados.



Figura 1. Caça-esporo usado na captura das partículas sólidas em suspensão nos pomares.

Análise dos discos de captura

A análise manual é realizada visualmente, com o auxílio de um microscópio, necessitando em torno de duas horas para completar a busca e contagem de esporos em cada disco. É importante ressaltar que a análise é feita apenas sobre uma amostra coletada do disco e não sobre toda a superfície.

O sistema de visão artificial CitrusVis

O principal objetivo desse sistema é automatizar a identificação dos ascósporos existentes nas imagens adquiridas dos discos de coleta, aplicando-se técnicas de visão computacional e de reconhecimento de padrões, o qual permite informar ao produtor a existência dos esporos do fungo no pomar. Além disso, outras informações podem ser obtidas e combinadas, como, por exemplo, a data, a hora e a direção do vento para cada ocorrência do fungo, caso sejam cruzadas com os dados de uma estação agrometeorológica. Um sistema típico de visão computacional envolve determinadas etapas (GONZALEZ & WOODS, 2002): aquisição, segmentação, análise e extração de características e classificação, conforme representado na Figura 2, sendo cada uma dessas etapas detalhadas a seguir.

A coleta e a aquisição das imagens, etapas 1 e 2, realizaram-se por meio dos discos de coletas e de câmeras digitais acopladas a um microscópio convencional. A aquisição das imagens usadas durante o desenvolvimento deste trabalho foi realizada pela EMBRAPA, UNESP (Jaboticabal) e pelo Fundecitrus e gentilmente disponibilizadas. Utilizaram-se 80 imagens no formato JPEG e, na maioria, com resolução de 640 x 512 pontos. Antes de as imagens serem adquiridas, aplica-se sobre os discos um corante láctico azul, largamente utilizado em laboratórios de microbiologia, para tingir as

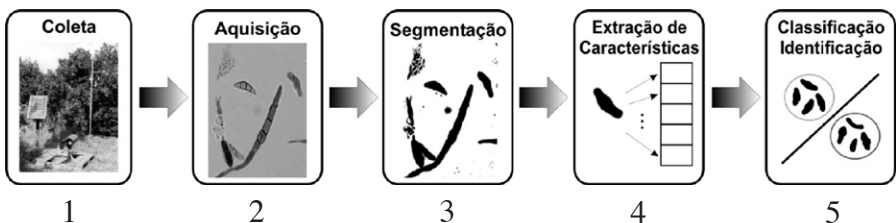


Figura 2. Etapas desenvolvidas no Sistema CitrusVis. 1. Coleta, 2. Aquisição, 3. Segmentação, 4. Extração de características, 5. Classificação e Identificação.

estruturas hialinas, indistintamente, permitindo que elas possam ser vistas com o auxílio de um microscópio. São tingidos tanto os ascósporos da *Guignardia citricarpa* quanto os demais esporos e hifas de outros fungos também capturados nos discos. A segmentação da imagem, etapa 3 – é uma das etapas mais importantes durante o desenvolvimento do trabalho, pois as etapas seguintes (análise e identificação) dependem de um bom resultado durante a segregação das partículas. Para obter um bom resultado, aplicaram-se algumas alternativas a fim de contornar problemas apresentados pelas imagens (variação na intensidade, borramentos, etc.).

As técnicas basearam-se na segmentação por limiarização, método que converte imagens em tons de cinza para imagens binárias (preto e branco). A forma mais simples de limiarização consiste na bipartição do histograma da imagem, convertendo os pixels cujo nível de cinza é maior ou igual a certo valor de limiar T em brancos e, os demais, em pretos (GONZALES & WOODS, 2002). Com isso, as partículas de interesse são representadas por pontos em preto e, o fundo da imagem, fica em branco.

Em razão do bom desempenho obtido em testes com as imagens dos discos de coleta, aplicou-se o método de Otsu (1979) para a segmentação das partículas. No entanto, uma das principais dificuldades encontradas em métodos como esse é o ruído³ decorrente da variação de níveis de cinza da imagem, o que não permite boa segmentação.

Uma das alternativas para reduzir os ruídos é a aplicação de filtros para a suavização da imagem⁴, como o gaussiano (GONZALEZ & WOODS, 2002). Entretanto, esse filtro altera as regiões de fronteira, devido ao borramento que ocasiona nas bordas das partículas, podendo alterar a forma de algumas delas após a limiarização, além de poder aumentar o número de partículas conexas. Com isso, optou-se por aplicar o filtro de difusão não-linear Perona-Malik (PERONA & MALIK, 1990), que realiza a suavização na imagem preservando as regiões de fronteira. Esse filtro reduz a variação dos níveis de cinza por região e, conseqüentemente, os ruídos após a limiarização (WEICKERT, 1997). A equação de difusão aplicada é definida na equação 1 (PERONA & MALIK, 1990):

³ Pixels que representam defeitos ou distorções na imagem.

⁴ Operações matemáticas aplicadas sobre a matriz que representa a imagem digital a fim de reduzir os ruídos nela presentes (GONZALEZ & WOODS, 2002).

$$g(\|\nabla I\|) = \frac{1}{1 + \left(\frac{\|\nabla I\|}{K}\right)^2} \quad (1)$$

Definido um limiar de fronteira ($K=4$) para uma imagem I , o processo de difusão ocorre com maior ou menor efeito, de acordo com a amplitude local (MOREL & SOLIMINI, 1995; VOCI et al., 2004).

A Análise e Extração de Características, etapa 4, foi realizada para cada uma das partículas segmentadas. Tendo-se adotada a curvatura da forma, a informação base a ser extraída das partículas é o contorno paramétrico por meio do algoritmo seguidor do contorno (COSTA & CESAR JR., 2000). Durante a extração do contorno, já se realiza uma pré-seleção das amostras por meio do perímetro, ou seja, somente as partículas com perímetro dentro do intervalo definido são consideradas para a análise. Por fim, um conjunto pré-selecionado de contornos é extraído de cada imagem para, em seguida, efetuar-se a extração dos descritores. Para cada um desses contornos, calcula-se a curvatura, considerando as equações 2 e 3, sendo o desvio padrão do filtro gaussiano $\sigma = 0,22$.

$$k(t) = \frac{\dot{x}(t)\ddot{y}(t) - \ddot{x}(t)\dot{y}(t)}{(\dot{x}(t)^2 + \dot{y}(t)^2)^{1.5}} \quad (2)$$

$$k(t, \sigma) = \mathfrak{F}^{-1}\{K(f)G(f, \sigma)\} \quad (3)$$

Os descritores para a composição dos vetores de características são obtidos com a aplicação da Transformada de Fourier e da Transformada de Wavelet sobre o sinal da curvatura. No primeiro caso, somente a magnitude dos coeficientes de Fourier é usada como característica (COSTA & CESAR JR., 2000). Outra função que pode ser usada como característica é a função do espectro da potência, também conhecida como densidade espectral. Essa função consiste no quadrado da magnitude do espectro. Em seguida, consi-

derando-se apenas a densidade espectral do sinal no domínio da frequência, foram selecionados 60 descritores. Todos esses passos são ilustrados na Figura 3. Cada uma das partículas obtidas da imagem foi representada por um vetor de características, os quais foram submetidos aos métodos de reconhecimento de padrões na etapa seguinte.

A Identificação dos Ascósporos – etapa 5 – consistiu em aplicar técnicas de reconhecimento de padrões para identificar os ascósporos do fungo *Guignardia citricarpa*. A técnica de reconhecimento de padrões adotada foi a Rede Neural Artificial, empregando uma rede *feed-forward backpropagation* (HAGAN & MENHAJ, 1994) com 60 entradas, duas camadas intermediárias, com 20 e 15 neurônios cada uma, e a camada de saída com dois neurônios. Um dos neurônios da camada de saída representa a classe *Ascósporos* e, o outro, a classe *Não-Ascósporos*, indicando o de maior valor a decisão da rede sobre a classe a qual o padrão analisado pertence. Para a seleção dos métodos mais adequados à caracterização dos ascósporos do fungo *Guignardia citricarpa*, realizou-se um estudo comparativo, detalhado por PAZOTI et al. (2005), que analisaram o comportamento de técnicas baseadas na assinatura da forma, obtida por meio da distância euclidiana (GONZALEZ & WOODS, 2002), na assinatura baseada em projeção (JAIN, 1989) e na curvatura da forma (MOKHTARIAN & MACKWORTH, 1992; COSTA & CESAR JR., 2000). A partir desse estudo, selecionou-se a curvatura da forma para caracterização das partículas, por ter apresentado durante os estudos comparativos melhores resultados na distinção das partículas.

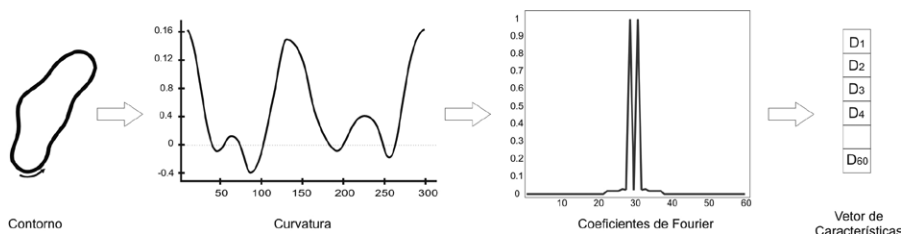


Figura 3. Processos envolvidos para a extração das características e composição do vetor com os descritores que representam o esporo do fungo *Guignardia citricarpa*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma das tarefas mais importantes no desenvolvimento deste trabalho foi segmentar as partículas contidas nos discos de coleta, uma vez que, sem sua separação correta, não seria possível obter êxito na identificação dos ascósporos por meio da forma. Dois métodos de suavização foram associados ao método de limiarização para segmentação: filtro gaussiano (linear) e filtro de Perona-Malik (não-linear), conforme apresentado em Material e Métodos. Na Figura 4, encontram-se os resultados obtidos com a aplicação dos filtros lineares e não-lineares sobre a imagem de um disco de coleta e as respectivas imagens após a limiarização. Nessa comparação, pode-se observar que os dois filtros apresentam menos ruído, comparado ao resultado obtido com limiarização aplicada diretamente na imagem original (Figura 4B). Na imagem com o filtro gaussiano (Figura 4D), observa-se que algumas partículas aparecem maiores do que realmente são, ou não aparecem inteiras. Observa-se, também, que a conexão entre as bordas de diferentes partículas é maior, o

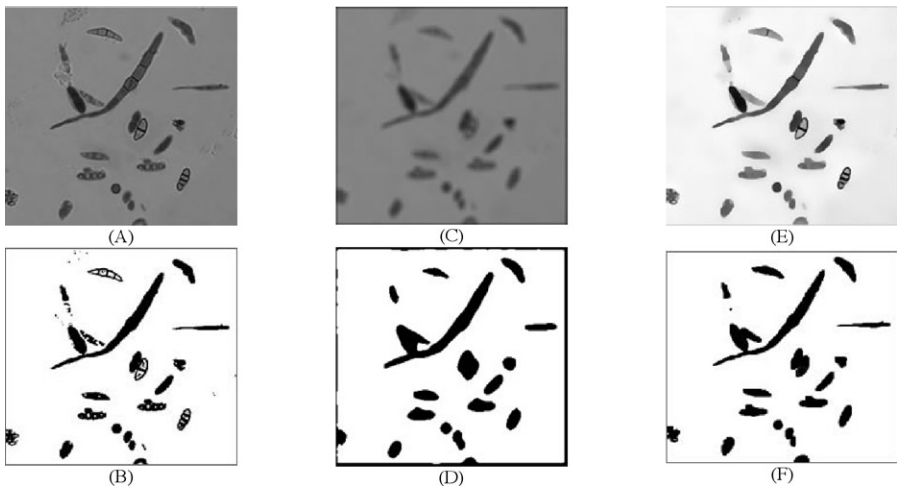


Figura 4. Comparação entre a aplicação dos filtros após a limiarização da imagem: A: imagem original em escala de cinza; B: limiarização da imagem original; C: aplicação do filtro gaussiano (5 x 5); D: limiarização da imagem com filtro gaussiano; E: aplicação do filtro de Perona-Malik (30 iterações e $K=4$) e F: limiarização da imagem com o filtro Perona-Malik.

que não ocorre com o filtro de Perona-Malik (Figura 4F). É importante ressaltar que qualquer deformação das partículas pode levar à sua classificação incorreta, sendo sutis as características que diferem uma das outras.

Por fim, após a aplicação do filtro de Perona-Malik e da limiarização, outras técnicas tiveram de ser aplicadas para refinar o processo de segmentação: (i) filtros morfológicos e (ii) a transformada *watershed*. Aplicaram-se filtros morfológicos a fim de eliminar os ruídos restantes do processo de limiarização e de partes de alguns filamentos. Considerando também que os objetos na imagem são analisados individualmente, uma das principais dificuldades encontradas nesse tipo de imagem refere-se à sobreposição ou à conexão entre as partículas. Para contornar esse problema, utilizou-se a técnica transformada *watershed* (ROERDINK & MEIJSTER, 2000). Sua aplicação, que consiste no algoritmo de imersão proposto por VINCENT & SOILLE (1991), apresentou resultados bastante satisfatórios no tratamento de sobreposição das partículas.

Realizado o processo de separação das partículas, aplicou-se a extração do contorno. Nesse caso, uma pré-seleção das partículas a serem submetidas à análise foi realizada com base no perímetro, característica comum encontrada nas partículas referentes aos esporos do fungo *Guignardia citricarpa*. As partículas com perímetro fora do intervalo definido com base nos estudos experimentais foram descartadas e consideradas como não-ascósporos (PAZOTI, 2005; PAZOTI et al., 2005). Essa estratégia demonstrou-se bastante eficaz, reduzindo o número de partículas para extrair características e submeter à identificação por meio da Rede Neural Artificial.

Para validar o sistema de visão computacional desenvolvido, separaram-se três conjuntos de imagens, com 20 imagens cada um. Na avaliação dos resultados, consideraram-se os seguintes itens: tempo de processamento em segundos; quantidade de partículas segmentadas; quantidade de partículas pré-selecionadas pelo perímetro; número de erros ocorridos na pré-seleção (partículas de ascósporos que não foram pré-selecionadas com base no perímetro); quantidade de ascósporos existentes na imagem (identificados manualmente); quantidade de ascósporos identificados corretamente pelo sistema; quantidade de falso-positivos e falso-negativos; e o erro total, que é a soma do número de erros ocorridos na pré-seleção e de erros da rede neural.

O resultado geral obtido com a análise dos três conjuntos de imagens é apresentado na Tabela 1. Nesta, consideraram-se dois tipos de erros: o referente à pré-seleção das partículas, que ocorre quando a partícula de um ascósporo não é pré-selecionada, e o erro relativo à rede neural, que sucede quando uma partícula pré-selecionada não é classificada corretamente pela rede.

O resultado geral obtido com esses experimentos foi de 96,6% de acerto na identificação das partículas existentes no disco, considerando apenas as pré-selecionadas. Além disso, o tempo médio de processamento para cada imagem também foi de apenas 66 segundos por imagem. Na Figura 5, são mostradas duas imagens com os ascósporos identificados por meio do sistema desenvolvido. As marcações indicam os ascósporos reconhecidos pela rede neural, sendo que nesses casos todas as partículas foram corretamente

Tabela 1. Resultado geral obtido com o sistema CitrusVis após a análise de 60 imagens obtidas de discos de caça-esporos

Análises realizadas	Número de partículas	Total de partículas, %
Total de partículas existentes	786	-
Total de partículas pré-selecionadas	778	98,0
Erros na pré-seleção	8	1,0
Erros na identificação (rede neural artificial)	19	2,4
Percentual de acerto		96,6

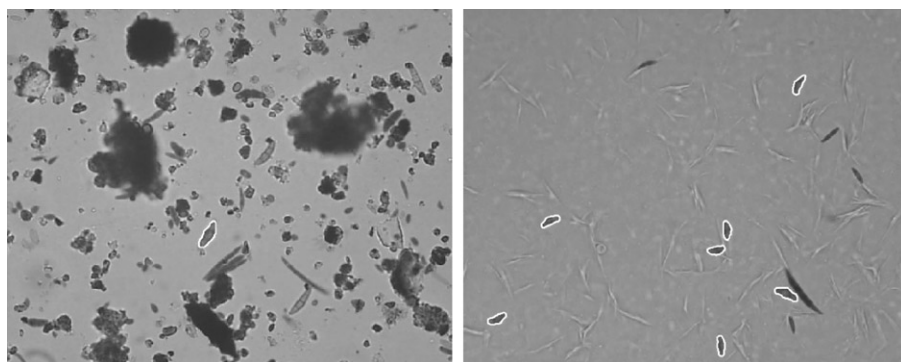


Figura 5. Imagens obtidas após o processo de análise. Em destaque, os ascósporos identificados corretamente pelo sistema CitrusVis.

identificadas. Neste trabalho entretanto, não foram levados em consideração os ascósporos do *Guignardia mangifera*, que não causam danos aos frutos. Uma continuidade deste trabalho de pesquisa é incorporar a *G. mangifera* na análise e identificar mecanismos matemáticos para diferenciá-la.

O método descrito neste trabalho, portanto, possibilita ao citricultor ou ao responsável técnico monitorar com segurança a ocorrência dos ascósporos de *Guignardia citricarpa* no pomar. O sistema permite um monitoramento ágil, contribuindo para que o combate eficaz à doença seja realizado em um tempo menor a partir da detecção dos ascósporos, uma vez que, quando essa tarefa é realizada manualmente, ela se torna inviável em razão do custo e da demora da análise. As informações do sistema CitrusVis combinadas com outros dados, por exemplo meteorológicos, fornecem suporte à decisão, favorecendo uma estratégia adequada para prevenir/controlar a doença.

O combate à doença da mancha preta requer informações precisas e ágeis, e que atualmente, são fornecidas por meio da análise manual de amostras coletadas nos pomares, tarefa que, além de onerosa, é demorada. O método computacional apresentado neste trabalho permite automatizar a identificação dos ascósporos do fungo, possibilitando a criação de ferramentas de precisão que forneçam dados de forma rápida e com custo relativamente baixo, fornecendo informações importantes que auxiliem no controle eficaz à doença da mancha preta. Esse sistema também é inovador, pois apresenta nova perspectiva em ferramentas para o diagnóstico do patógeno, podendo, inclusive, ser estendida para uma detecção mais precisa não somente de outros patógenos, mas, também, em diferentes culturas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (Proc. 03/04826-9) e ao CNPq (Proc. 303746/2004-1) o auxílio financeiro; à Embrapa, à Unesp de Jaboticabal e ao Fundecitrus, o fornecimento das imagens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAYA-KROFF, P.; AMARAL, A.; NEVES, L.; FERREIRA, E.; PONS, M. N., MOTA; M. & ALVES, M. M. Development of image analysis techniques as a tool to detect and quantify morphological changes in anaerobic sludge: I. application to a granulation process. **Biotechnology and Bioengineering**, v.8, n.2, p.184–193, 2004.

- BAAYEN, R. P.; BONANTS, P. J. M.; VERKLEY, G.; CARROLL, G. C.; VAN DER AA, H. A., WEERDT, M.; VAN BROUWERSHAVEN, I. R.; SCHUTTE, G. C., MACCHERONI, W., GLIENKE DE BLANCO, C. & AZEVEDO, J. L. Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, identified as a cosmopolitan endophyte of woody plants, g. mangiferae (***Phyllosticta capitalensis***). **European Journal of Plant Pathology**, v.92, n.5, p.464–477, 2002.
- BALDASSARI, R. B.; GOES, A.; SANTOS, J. M.; TIMOSSO, A. J. Microscopia eletrônica de varredura de isolados de *Guignardia citricarpa* obtidos de plantas cítricas. **Summa Phytopathologica**, vol. 27, n. 1, pgs. 88-92, 2001.
- COSTA, L. F.; REIS, S. F., ARANTES, R. A. T., ALVES, A. C. E MUTINARI, G. Biological shape analysis by digital curvature. **Pattern Recognition**, v.37, p.515–524, 2004.
- COSTA, L. F. & CESAR, JR., R. M. **Shape Analysis and Classification: theory and practice**. CRC Press, 2000. 659p.
- EPPO/CABI. *Guignardia citricarpa*. In **Quarantine Pests for Europe**. 2. ed., CAB International, Wallingford. p.773–781. 1997.
- GOES, A. Efeito da combinação de fungicidas sistêmicos e protetores no controle da mancha preta dos frutos cítricos causada por *Guignardia citricarpa*. /**Summa Phytopathologica**, /2002,vol.28, no. 1, p. 09-13.
- GONZALEZ, R. C. & WOODS, R. E. **Digital image processing**. Prentice-Hall:New Jersey, 2002. 793p.
- HAGAN, M. T. & MENHAJ, M. Training feed-forward networks with the Marquardt algorithm. **IEEE Transactions on Neural Networks**, v.5, n.6, p.989–993, 1994.
- JAIN, A. K. **Fundamentals of Digital Image Processing**. Prentice-Hall:Englewood Cliffs, NJ. 569p. 1989.
- MOKHTARIAN, F. & MACKWORTH, A. K. A theory of multi-scale, curvature-based shape representation for planar curves. **IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence**, v.14, n.8, p.789–805, 1992.
- MOREL, J. M. & SOLIMINI, S.. **Variational methods in image segmentation**. Birkhäuser: Boston, 1995. 245p.
- OTSU, N. A threshold selection method from grey-level histograms. **IEEE Trans. on Systems, Man, and Cybernetics**, v.9, n.1, p.62–66. 1979.
- PAZOTI, M. A.; GARCIA, R. E.; PESSOA, J. D. C. & BRUNO, O. M.. Comparison of shape analysis methods for *Guignardia citricarpa* ascospore characterization. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.8, n.3, p.266–275, 2005.
- PAZOTI, M. A. **CitrusVis: Um Sistema de Visão Computacional para identificação do *Guignardia citricarpa*, causador da Mancha Preta em citros**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, ICMC. São Carlos, 2005.

- PERONA, P. & MALIK, J. Scale-space and edge detection using anisotropic diffusion. **IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.**, v.12, n.7, p.629–639, 1990.
- PINO, F. O.. Levantamento censitário de unidades de produção agrícola do estado de São Paulo. **Lupa** (1995/1996). Relatório Técnico, IEA, CATI, SAA: São Paulo. 1997. 1936p.
- ROERDINK, J. B. & MEIJSTER, A.. The watershed transform: definitions, algorithms and parallelization strategies. **Fundamenta Informaticae**, v.41, p.187–228, 2000.
- SPÓSITO, M. B. **Dinâmica temporal e espacial da mancha preta (Guignardia citricarpa) e quantificação dos danos causados à cultura dos citros**. 2003. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, Piracicaba.
- TAKEMURA, C. M.; CESAR JR., R. M.; ARANTES, R. A. T.; COSTA, L. F.; HINGST-ZAHER, E.; BONATO, V. & REIS, S. Morphometrical data analysis using wavelets. **Real-Time Imaging**, v.10, p.239–250, 2004.
- TOLEDO, L. R. O desafio dos pomos de ouro. **Revista Globo Rural**, n. 232, pp. 1–5, 2005.
- VANHOUTTE, B.; PONS, M. N.; THOMAS, C. R.; LOUVEL, L. & VIVIER, H. Characterization of penicillium chrysogenum physiology in submerged cultures by color and monochrome image analysis. **Biotechnology and Bioengineering**, v.48, n.1, p.1–11, 1995.
- VINCENT, L. & SOILLE, P. Watersheds in digital spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations. **IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence**, v.13, n.6. p.583–598. 1991.
- VOCI, F.; EIHO, S.; SUGIMOTO, N. & SEKIGUCHI, H. Estimating the gradient threshold in the perona-malik equation. **IEEE Signal Processing Magazine**, v.21, n.3. p.39–46 2004.
- WEICKERT, J.. A review of nonlinear diffusion filtering. In: **SCALE-SPACE '97: International Conference on Scale-Space Theory in Computer Vision**, 1, 1997. p.3–28.
- WILKINSON, M. H. F., ROERDINK, J. B. T. M., DROOP, S. & BAYER, M. Diatom contour analysis using morphological curvature scale spaces. In: International Conference on Pattern Recognition, 15, **Anais...** 2000. v.3, p.652–655.